

(3)

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A) 昭62-100641

⑫ Int.Cl.
G 01 N 15/14
21/53

識別記号

府内整理番号
A-7246-2G
7458-2G

⑬ 公開 昭和62年(1987)5月11日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 粒子解析装置

⑮ 特 願 昭60-241004

⑯ 出 願 昭60(1985)10月28日

⑰ 発明者 多 胡 晃 川崎市中原区今井上町53番地 キヤノン株式会社小杉事業所内

⑱ 発明者 湯 口 直 樹 川崎市中原区今井上町53番地 キヤノン株式会社小杉事業所内

⑲ 出願人 キヤノン株式会社 東京都大田区下丸子3丁目30番2号

⑳ 代理人 弁理士 日比谷 征彦

明 細 書

1. 発明の名称

粒子解析装置

2. 特許請求の範囲

1. フローセルの流通部内を流れるサンプル液に流速測定用の光路からの照射光を照射する照射光学系と、前記流速測定用の光路からの照射光により照射されたサンプル液の流速を測定する流速測定手段とを具備したことを特徴とする粒子解析装置。

2. 前記流速測定手段は顕微鏡を観察する顕微光学系内に設け、該顕微光学系内の前記流通部と共に位置に流速測定用焦点ガラス板を配置したことを特徴とする粒子解析装置。

3. 前記焦点ガラス板に目盛を付して該目盛を読み取ることにより流速を測定するようにした特許請求の範囲第2項に記載の粒子解析装置。

4. 前記焦点ガラス板を移動してその移動量により流速を測定するようにした特許請求の範囲第

2項に記載の粒子解析装置。

5. 前記焦点ガラス板の移動はマイクロメータで行うようにした特許請求の範囲第3項に記載の粒子解析装置。

6. 前記焦点ガラス板の移動量を位置検出器により測定し、その移動量を表示器に表示するようにした特許請求の範囲第4項に記載の粒子解析装置。

3. 発明の詳細な説明

〔発明上の利用分野〕

本発明は、フローサイトメータ等において、フローセル内の流通部を流れるサンプル液の流速の測定を可能とした粒子解析装置に関するものである。

〔従来の技術〕

フローサイトメータとは、高速で流れる細胞が並んで、即ちサンプル液に例えばレーザービームを照射し、その散乱光及び赤外による光電信号を検出し、細胞の性質、構造等を解析する装置であり、細胞化学、血液学、肺臓学、遺伝学等の分野

で使用されている。

検体粒子はサンプル液中に浮遊し、このサンプル液は流体力学的焦点合わせの原理に基づき、シース液に包まれノズル、フローセルの中を層流の性質を保ちながら流れている。このサンプル液及びシース液をノズル、フローセルの中を高速で流すために、サンプル液、シース液はそれぞれ加圧されており、サンプル液はシース液よりも若干高く加圧されている。サンプル液の流速は、サンプル液に加えられる圧力とシース液に加えられる圧力の差によって変化し、圧力差が大きくなると流速は大きくなり、逆に圧力差が小さくなると流速は小さくなることが知られている。

ここで、検体粒子の大きさに比べサンプル液の流速が大きい場合には、検体粒子の通過位置はサンプル液の中で左右にふらつきを生ずる。また、検体粒子に照射されるレーザービームの光強度分布は、ガウス分布状の光強度分布を呈するので、同一の検体粒子であっても検体粒子の通過位置にふらつきが生ずると、照射光強度が変化するため

[発明の目的]

本発明の目的是、サンプル液中の検体粒子濃度に左右されることなく、効率良く高精度の粒子解析を行うために、サンプル液の流速を測定する手段を備えた粒子解析装置を提供することにある。

[発明の概要]

上述の目的を達成するための本発明の要旨は、フローセルの流通部内を流れるサンプル液に流速測定用の光路からの照射光を照射する照射光学系と、前記流速測定用の光路からの照射光により照射されたサンプル液の流速を測定する流速測定手段とを具備したことを特徴とする粒子解析装置である。

[発明の実施例]

本発明を図示の実施例に基づいて詳細に説明する。

第1図は光学系の構成図であり、フローセル1内の流通部2をサンプル液がシース液に包まれて層流状態を保ちながら、紙面に垂直な方向に流れ

に検体粒子から得られる光電信号に差が生じ、精度の高い測定が困難となる。また、逆に検体粒子の大きさに比べて流速が細い場合には、測定精度は高くなるが単位時間当りの検体粒子の通過個数が少なくななり、解析精度が低下して良好な解析結果が得難くなる。従って、効率良く高精度の測定を行うためには、流速を検体粒子の大きさとほぼ等しくすることが望ましい。

従来において、サンプル液、シース液に加えられるそれぞれの圧力は、検体粒子の単位時間当りの通過個数を計測し、その個数が一定の値となるように調整されている。この方法に基づく計測では、検体粒子の単位時間当りの通過個数は、サンプル液中の検体粒子濃度に左右され、濃度が薄い場合には検体粒子の単位時間当りの通過個数を増加するために、サンプル液にかける圧力を高くし、その流速を大きくしなければならなくなる。しかし流速が大きくなると、前述のように検体粒子の通過位置にふらつきが生じて精度の高い計測が困難となる。

ている。サンプル液とシース液はそれぞれ加圧されており、サンプル液はシース液よりも強かに高く加圧されている。

流通部2を流れのサンプル液と直交するフローセル1の一側方に、フローセル1側からハーフミラー3、及び射出光学系4と検体粒子へ照射するレーザービームLを発するレーザー光源5から射出される照射光学系が配置されている。そして、フローセル1を挟む照射光学系と反対側に、ハーフミラー8、及びレーザービームLによる検体粒子からの前方散乱光を測定する対物レンズ7、放り8、光電検出器9により構成される前方散乱光用の測光光学系が配置されている。また、検体粒子からの側方散乱光を測定するために、サンプル液Sの流れの方向とレーザービームLの光軸方向の何れにも垂直な方向に、対物レンズ10、放り11、光電検出器12により構成されている側方散乱光用の測光光学系が設けられている。更に、ハーフミラー3の反射側には凸レンズ13、タンゲステン電球から成る光源14が配置され、ハーフ

フミラー 6 の反射側には対物レンズ 15、焦点ガラス版 16、接眼レンズ 17 から構成される流体観察光学系が配置されている。そして、光源 14 と焦点ガラス版 16 は共役されている。なお、第 2 図に示すように焦点ガラス版 16 には、サンプル液 S の流径 W を測定するための目盛 18 が付されている。

前方散乱光用の調光光学系はレーザービーム L によって散乱された検体粒子の前方散乱光を検出して検体粒子の大きさを求め、側方散乱光用の調光光学系は側方散乱光及び消光を検出し、検体粒子の性状等を測定する。

流径の測定に当っては、レーザー光線 5 からのレーザービーム L を消灯して流径測定用の光源 14 を点灯すると、光束は凸レンズ 13 により点線で示すように平行光とされ、ハーフミラー 3 を介して流通部 2 を通過し、更にハーフミラー 6、対物レンズ 15 を経て焦点ガラス版 16 に結像する。検者は接眼レンズ 17 を介して焦点ガラス版 16 の目盛 18 を目視することにより、シース液

の流通部 2 の通過位置のばらつきはなくなり、精度の高い解析が可能となる。

逆に、検体粒子 P に比べてサンプル液 S の流径 W が小さい場合には、単位時間当たりの検体粒子 P の流通部 2 の通過個数が少なくなり、解析速度が低下していく。この場合には、サンプル液 S に加える圧力を大きくするか、又はシース液 C への加压を小さくする等の方法を用いて、サンプル液 S とシース液 C との圧力差を増大させることにより、サンプル液 S の流径 W を大きくすることができる。

サンプル液 S の流径 W の測定精度を更に向上させるためには、焦点ガラス版 16 の表面に第 3 図に示すような二重線 19 を刻設し、この焦点ガラス版 16 を図示しないマイクロメータにより移動できるようにしておくといい。測定に際しては、先ず二重線 19 の部分をサンプル液 S の右端部 A に合致させ、このときのマイクロメータの読みを a とする。次に、マイクロメータにより焦点ガラス版 16 を第 3 図の矢印の方向に移動し、二重線

C によって包まれたサンプル液 S の流径 W を読み取ることができる。第 2 図(a)においては、サンプル液 S の流径 W は検体粒子 P の大きさに比べて大きくなっているため、検体粒子 P の通過位置はサンプル液 S 内でふらつきが生ずる。

散乱光の測定時において、レーザービーム L の照射光強度分布は(b) に示すようにガウス分布であり、検体粒子 P がサンプル液 S の中心部を通過する場合と端部を通過する場合では、レーザービーム L の検体粒子への照射光強度に差が生ずるために、検体粒子 P の反射光から得られる光電信号に差が生することになり、精度の高い測定が困難となる。

サンプル液 S の流径 W が検体粒子 P の様よりも大きくなった場合には、サンプル液 S への加压を小さくするか、或いはシース液 C への加压を大きくするか、双方の補正が考えられるが、サンプル液 S に加える圧力とシース液 C へ加える圧力の差を小さくして、検体粒子 P の直径とサンプル液 S の流径 W を一致させるようにすれば、検体粒子 P

19 をサンプル液 S の左端部 B に合致させて、このときのマイクロメータの読みを b とすれば、サンプル液 S の流径 W は (b-a) で表すことができ、より正確に流径 W を測定できることになる。

第 4 図は焦点ガラス版 16 の目盛 18 やマイクロメータによる数値の読み取りではなく、機械的に測定する場合の構成図である。焦点ガラス版 16 を操作する操作レバー 20 に位置検出器 21 が取り付けられており、この位置検出器 21 と移動距離に比例したパルス信号を発信するパルス発信器 22 との共働によって、焦点ガラス版 16 の移動距離が計測できる。

この場合にサンプル液 S の流径 W を測定するには、第 3 図に示す二重線 19 をサンプル液 S の右端部 A に合致させ、この時点でリセットスイッチ 23 を入れ、リセット回路 24 を介して計数回路 25 を初期状態にリセットしておく。次に、二重線 19 をサンプル液 S の左端部 B までマイクロメータを用いて移動させる。このとき、端部 A か

らBまでの移動距離に比例したパルス数がパルス発信器22から出力され、このパルス数を計数回路25で計数することにより移動距離が求まり、高精度に流径Wの測定が可能となる。更に、計数結果を表示回路26を介して表示器27で表示することも可能である。

第5図は流径測定用光束の光軸とサンプル液Sとの合軸状態を示しており、視野内ではサンプル液Sは中心部分を流れている。粒子解析を行う場合には、サンプル液Sと光軸とをこのように合軸状態にセットしておくことが望ましい。

一方、第6図においては、光軸とサンプル液Sとの非合軸状態を示し、サンプル液Sの流れの中心は視野の中心よりもより多くだけ、つまり光軸とよりだけずれていることが容易に確認できる。

実施例においては、流径測定用の光源14としてタンクステン光源を用いたが、レーザー光源5からのレーザービームLであっても、フィルタなどにより減光することにより適用可能である。また、レーザービームLを利用し、一次元光電検出

ガラス板、17は接眼レンズ、18は目橋、19は二重鏡、21は位置検出器、22はパルス発信器、27は表示器、Sはサンプル液、Pは検体粒子である。

特許出願人 キヤノン株式会社

代理人弁理士 日比谷征

器を用いて得られる流径のパターンから光電的にサンプル液Sの流径を測定してもよい。

[発明の効果]

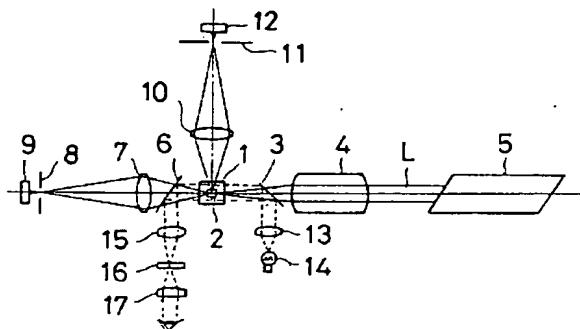
以上説明したように本発明による粒子解析装置は、サンプル液の流径を容易に測定可能であるため、流径を最適化に調整することが可能であり、検体粒子の測光部の通過位置のふらつきを最小に抑えることができるので、高精度の粒子解析が可能となる。

4. 図面の簡単な説明

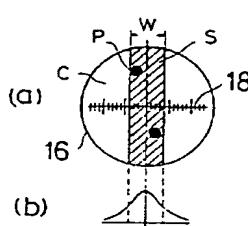
図面は本発明に係る粒子解析装置の実施例を示し、第1図は光学系の構成図、第2図、第3図はサンプル液の流径の観察状態の説明図、第4図は焦点ガラス板の移動距離観察表示系のブロック回路構成図、第5図、第6図は流径測定用光束の光軸とサンプル液の流れの中心との位置関係の説明図である。

符号1はフローセル、2は流通部、3、6はハーフミラー、5はレーザー光源、13は凸レンズ、14は光源、15は対物レンズ、16は焦点

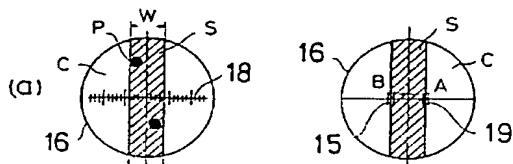
第1図



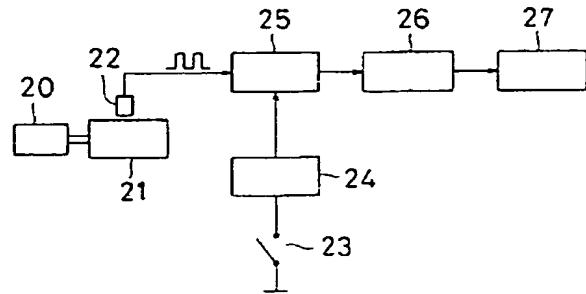
第2図



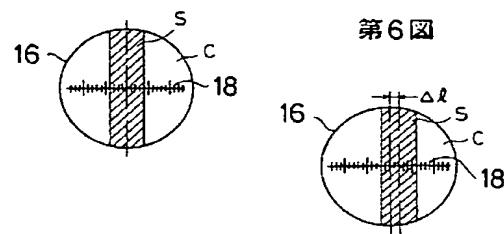
第3図



第4図



第5図



第6図

